Agricultural Sci. J. 41 : 1 (Suppl.) : 345-348 (2010) ว. วิทย. กษ. 41 : 1 (พิเศษ) : 345-348 (2553)

ผลของสารฆ่าเชื้อและสารลดแรงตึงผิวในการกำจัดเชื้อจุลินทรีย์ดั้งเดิมและ *Salmonella typhimurium* ในโหระพาระหว่างปฏิบัติการหลังการเก็บเกี่ยว

Effects of Sanitizers and Surfactant in the Elimination of Natural Flora and *Salmonella typhimurium* in Sweet Basil During Post Harvest Handling

ตรีอุบล แก้วหย่อง[1] และ บวรศักดิ์ ลีนานนท์[1]
Treeubon Kaeoyong[1] and Borwonsak Leenanon[1]

Abstract

The numbers of each microbial type found in sweet basil during post harvest handling and effects of sanitizers plus surfactant to eliminate natural flora and *Salmonella typhimurium* were investigaterd and found that the microbial numbers of sweet basil are as following : Total aerobic bacteria 5.86 log CFU/g, Coliform 4.53 log CFU/g, *Salmonella* spp. 5.26 log CFU/g, *Staphylococcus aureus* 1.73 log CFU/g and *Listeria monocytogenes* 2.86 log CFU/g while *Escherichia coli* O157:H7 was not detected. For the effects of sanitizers plus surfactant to eliminate the total microbial numbers, it was found that 200 ppm FAC (Free Available Chlorine) solution plus 0.1% Tween 80 could reduce the total microbial numbers greater than the solutions of 200 ppm FAC, 60 ppm PA, 2.5% H_2O_2, 2.5% H_2O_2 plus 0.1% Tween 80 and control (tap water) ($P \leq 0.05$) but not reduce significantly different in numbers when compared to 60 ppm PA (Peracetic acid) solution plus 0.1% Tween 80. Moreover, for the effects of sanitizers plus surfactant to eliminate *S. typhimurium*, it was found that solutions of 200 ppm FAC plus 0.1% Tween 80 could reduce the numbers of *S. typhimurium* greater than the others and control (tap water) ($P \leq 0.05$).
Key word: sweet basil, sanitizer, surfactant

บทคัดย่อ

ศึกษาจำนวนเชื้อจุลินทรีย์แต่ละชนิดที่พบในโหระพาในช่วงปฏิบัติการหลังการเก็บเกี่ยวและผลของสารฆ่าเชื้อร่วมกับสารลดแรงตึงผิวในการกำจัดเชื้อจุลินทรีย์ดั้งเดิม และ *Salmonella typhimurium* พบว่า จำนวนเชื้อจุลินทรีย์ที่พบในโหระพาเป็นดังนี้ คือ Total aerobic bacteria 5.86 log CFU/g, Coliform 4.53 log CFU/g, *Salmonella* spp. 5.26 log CFU/g, *Staphylococcus aureus* 1.73 log CFU/g และ *Listeria monocytogenes* 2.86 log CFU/g ในขณะที่ตรวจไม่พบ *Escherichia coli* O157:H7 สำหรับผลของสารฆ่าเชื้อร่วมกับสารลดแรงตึงผิวในการลดจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด พบว่า สารละลาย FAC (Free Available Chlorine) 200 ppm ร่วมกับ Tween 80 เข้มข้น 0.1% สามารถลดจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดได้มากกว่าสารละลาย FAC 200 ppm, PA 60 ppm, H_2O_2 2.5%, H_2O_2 2.5% ร่วมกับ Tween 80 เข้มข้น 0.1% และ control (น้ำประปา) ($P \leq 0.05$) แต่ลดจำนวนลงได้ไม่แตกต่างทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับสารละลาย สารละลาย PA (Peracetic acid) 60 ppm ร่วมกับ Tween 80 เข้มข้น 0.1% ส่วนผลของสารฆ่าเชื้อร่วมกับสารลดแรงตึงผิวในการลดจำนวน *S. typhimurium* พบว่า สารละลาย FAC 200 ppm ร่วมกับ Tween 80 เข้มข้น 0.1% สามารถลดจำนวน *S. typhimurium* ได้มากกว่าสารละลายอื่นๆ และ control (น้ำประปา) ($P \leq 0.05$)
คำสำคัญ โหระพา, สารฆ่าเชื้อ, สารลดแรงตึงผิว

คำนำ

จากสถิติรายงานการแจ้งเตือนสินค้าเกษตรและอาหารของไทย พ.ศ. 2551 ที่ผ่านมา พบว่าสินค้าที่ส่งออกไปยังสหภาพยุโรป มีการตรวจพบเชื้อ *Salmonella* spp. ในผักสดมากที่สุด โดยเฉพาะการตรวจพบในโหระพา (สำนักงานที่ปรึกษาการเกษตรต่างประเทศประจำสหภาพยุโรป, 2551) ซึ่งผักสดเหล่านี้มีโอกาสปนเปื้อนจากเชื้อจุลินทรีย์ โดยเฉพาะเชื้อจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรค ตั้งแต่การเพาะปลูก การเก็บเกี่ยว การแปรรูป รวมทั้งระหว่างการวางจำหน่าย โดยส่วนใหญ่จะปนเปื้อนมา

[1] ภาควิชาเทคโนโลยีอาหาร คณะเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยขอนแก่น อ.เมือง จ.ขอนแก่น 40002
[1] Department of Food Technology, Faculty of Technology, Khonkaen University,Muang, Khonkaen, 40002

จากสิ่งปฏิกูลทั้งทางตรงและทางอ้อม เช่น การใช้ปุ๋ยคอก การชลประทานที่มีการปนเปื้อนในน้ำ การมีสุขาภิบาลที่ไม่ถูกสุขลักษณะทั้งในแปลงปลูก และคนงาน รวมถึงการทำความสะอาดอุปกรณ์ไม่เพียงพอ (Ukuku, 2006)

การล้างจัดเป็นขั้นตอนหนึ่งที่สำคัญในกระบวนการผลิต เพื่อขจัดเศษดินและเชื้อจุลินทรีย์ในผักสดออกไป อย่างไรก็ตาม มีรายงานว่าการใช้น้ำประปาล้างเพียงอย่างเดียว จำนวนเชื้อจุลินทรีย์ที่ลดลงจะไม่แตกต่างจากผักที่ไม่ได้ล้าง (Ruiz-Cruz et al., 2007) จึงจำเป็นต้องใช้สารฆ่าเชื้อชนิดต่างๆ เพื่อช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการกำจัดเชื้อจุลินทรีย์ในผักสด

ดังนั้นเพื่อเป็นการช่วยลดจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ โดยเฉพาะเชื้อจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรค ในผักสดที่ส่งออกไปยังต่างประเทศ และป้องกันการเกิดอาหารเป็นพิษซึ่งอาจจะเกิดความรุนแรงต่อผู้บริโภค จึงได้มีการศึกษาสภาวะในการล้าง ที่จะสามารถลดเชื้อจุลินทรีย์ให้ได้มากที่สุด ทั้งที่เป็นเชื้อจุลินทรีย์ดั้งเดิม และเชื้อจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคโดยการศึกษาผลของการใช้สารฆ่าเชื้อร่วมกับสารลดแรงตึงผิวในการกำจัดเชื้อจุลินทรีย์ในโหระพา ทั้งที่เป็นเชื้อจุลินทรีย์ที่พบตามธรรมชาติและจากการจำลองสภาวะการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรค เช่น *Salmonella* spp. ซึ่งอาจเกิดการปนเปื้อนได้ตั้งแต่การเพาะปลูกไปจนถึงการวางจำหน่าย

อุปกรณ์และวิธีการ

การศึกษาจำนวนเชื้อจุลินทรีย์แต่ละชนิด โดยสุ่มตัวอย่างโหระพาทั้งต้นที่มีขนาดใกล้เคียงกัน แล้วสุ่มเลือกเฉพาะใบจากส่วนต่างๆ รวมปริมาณ 25 กรัม ใส่ในถุง stomacher ที่มี Peptone water 0.1% ปริมาตร 225 มล. นำเข้าเครื่อง stomacher แล้วตีผสมด้วยความเร็วปานกลาง เป็นเวลา 60 วินาที จากนั้นผ่านขั้นตอนการเจือจาง แล้วตรวจวิเคราะห์ดังนี้คือ Total aerobic bacteria ใช้อาหาร Plate Count Agar บ่มที่อุณหภูมิ 35°C เป็นเวลา 48 ชั่วโมง, Coliform ใช้อาหาร Violet Red Bile Agar บ่มที่อุณหภูมิ 35 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง, *Salmonella* ใช้อาหาร Xylose Lysine Deoxycholate Agar บ่มที่อุณหภูมิ 35°C เป็นเวลา 48 ชั่วโมง, *Staphylococcus aureus* ใช้อาหาร Baird-Parker Agar บ่มที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง, *Listeria monocytogenes* ใช้อาหาร Oxford Agar บ่มที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และ *Echerichia coli* O157:H7 ใช้อาหาร Sorbitol McConkey Agar บ่มที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

การศึกษาผลของการใช้สารฆ่าเชื้อชนิดต่างๆ ร่วมกับสารลดแรงตึงผิวต่อจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด และ *Salmonella typhimurium* ในโหระพา โดยการศึกษาเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดจะใช้เชื้อจุลินทรีย์ที่มีอยู่ตามธรรมชาติในโหระพา (*Ocimum basilicum* Linn.) ส่วนในการจำลองสภาวะการปนเปื้อน จะใช้ *Salmonella typhimurium* DMST 2069 จากกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ จ.นนทบุรี ซึ่งเก็บใน Tryptone soy agar (TSA) ที่ 5°C โดยนำเชื้อมากระตุ้นใน Tryptone soy broth (TSB) ที่อุณหภูมิ 35±2 °C จากนั้นเตรียม suspension ของ *S. typhimurium* ใน TSB 50 มล. แล้วบ่มที่อุณหภูมิ 35±2 °C (นาน 18 ชั่วโมง) จากนั้นเจือจางด้วย Peptone water 0.1% เพื่อปรับจำนวนเชื้อเป็น 10^7 CFU/ml นำตัวอย่างโหระพาทั้งต้นที่มีขนาดใกล้เคียงกัน แช่ใน suspension ของ *S. typhimurium* 5 นาที โดยมีการคนอย่างสม่ำเสมอ แล้วนำมาวางใน Laminar Flow Hood ที่อุณหภูมิห้อง (30±2 °C) เป็นเวลา 45 นาที เพื่อทำให้แห้ง จากนั้นนำตัวอย่างโหระพา แช่ในสารละลายคลอรีน 200 ppm (pH 6.5), สารละลายกรดเปอร์อะซิติก 60 ppm และ สารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 2.5% ที่ใช้และไม่ได้ใช้ร่วมกับ Tween 80 เข้มข้น 0.1% ทุกการทดลองจะใช้เวลาแช่ 2 นาที โดยมีการคนอย่างสม่ำเสมอ ส่วนตัวอย่างควบคุมคือ โหระพาที่ล้างด้วยน้ำประปา 2 นาที จากนั้นนำโหระพามาวางใน Laminar Flow Hood ที่อุณหภูมิห้อง (30±2 °C) เป็นเวลา 45 นาที แล้วสุ่มเลือกเฉพาะใบจากส่วนต่างๆ รวมปริมาณ 25 กรัม ใส่ในถุง stomacher ที่มี Peptone water 0.1% ปริมาตร 225 มล. นำเข้าเครื่อง stomacher แล้วตีผสมด้วยความเร็วปานกลาง เป็นเวลา 60 วินาที จากนั้นผ่านขั้นตอนการเจือจาง แล้วตรวจวิเคราะห์จำนวนเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดโดยใช้อาหาร Plate Count Agar ส่วน *S. typhimurium* จะใช้อาหาร Xylose Lysine Deoxycholate Agar โดยจะบ่มที่อุณหภูมิ 35 °C เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

ผลและวิจารณ์

ในการศึกษาจำนวนเชื้อจุลินทรีย์แต่ละชนิดในโหระพาที่ยังไม่ผ่านการล้าง (Table 1) พบว่า มีเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด 5.86 log CFU/g ซึ่งอยู่ในช่วง 4-6 log CFU/g ดังที่ Nascimento *et al.* (2003) ได้เคยรายงานไว้ นอกจากนี้ยังพบเชื้อจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคหลายชนิดในโหระพา เช่น *Staphylococcus aureus* และ *Listeria monocytogenes* โดยเฉพาะอย่างยิ่ง *Salmonella* spp. ซึ่งมีการตรวจพบปริมาณสูงถึง 5.26 log CFU/g ส่วน *Escherichia coli* O157:H7 นั้นตรวจไม่พบในตัวอย่าง ดังนั้นจึงจำเป็นจะต้องมีการล้างร่วมกับการใช้สารฆ่าเชื้อเพื่อกำจัดเชื้อจุลินทรีย์ในธรรมชาติและเชื้อจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรค ที่อาจก่อให้เกิดอันตรายต่อสุขภาพของผู้บริโภค

Table 1 The number of each microbial type found in sweet basil during post harvest handling

Microbial type	Microbial number (log CFU/g)
Total aerobic bacteria	5.86 ± 0.78[a]
Coliform	4.53 ± 0.14[c]
Salmonella spp.	5.26 ± 0.12[b]
Staphylococcus aureus	1.73 ± 0.07[e]
Listeria monocytogenes	2.86 ± 0.49[d]
Escherichia coli O157:H7	ND[f]

ND = Not Detected

จำนวนเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดที่พบตามธรรมชาติในโหระพา คือ 5.86 log CFU/g (Table 1) และเมื่อล้างโหระพาด้วยน้ำประปาเป็นเวลา 2 นาที (control) ที่อุณหภูมิห้อง (30±2°C) พบว่า เชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดจะลดลงเหลือ 4.74 log CFU/g และเมื่อล้างโหระพาด้วยสารละลายสารฆ่าเชื้อที่ใช้และไม่ได้ใช้ร่วมกับสารลดแรงตึงผิว เป็นเวลา 2 นาที ที่อุณหภูมิห้อง (30±2°C) พบว่า สารละลายคลอรีน 200 ppm ที่ใช้ร่วมกับ Tween 80 เข้มข้น 0.1% สามารถลดจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดได้มากกว่า สารละลายคลอรีน 200 ppm สารละลายกรดเปอร์อะซิติก 60 ppm สารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 2.5% สารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 2.5% ที่ใช้ร่วมกับ Tween 80 เข้มข้น 0.1% และ control อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) แต่ลดจำนวนลงได้ไม่แตกต่างทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับสารละลาย สารละลาย PA (Peracetic acid) 60 ppm ร่วมกับ Tween 80 เข้มข้น 0.1% ส่วนสารละลายคลอรีน 200 ppm สารละลายกรดเปอร์อะซิติก 60 ppm สารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 2.5% สารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 2.5% ที่ใช้ร่วมกับ Tween 80 เข้มข้น 0.1% จะมีประสิทธิภาพในการลดจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) (Table 2)

Table 2 Effects of sanitizers plus surfactant to eliminate natural flora in sweet basil

Types of solutions	Total microbial numbers (log CFU/g)
Control	4.74 ± 0.28[a]
200 ppm FAC	3.74 ± 0.06[b]
200 ppm FAC + 0.1% Tween 80	3.45 ± 0.14[c]
60 ppm PA	3.80 ± 0.01[b]
60 ppm PA + 0.1% Tween 80	3.67 ± 0.70[bc]
2.5% H_2O_2	3.82 ± 0.13[b]
2.5% H_2O_2 + 0.1% Tween 80	3.76 ± 0.13[b]

FAC = Free Available Chlorine; PA = Peracetic Acid

จากการศึกษาผลของการใช้สารฆ่าเชื้อชนิดต่างๆ ร่วมกับสารลดแรงตึงผิวที่มีต่อจำนวน *Salmonella typhimurium* ในโหระพา (Table 3) พบว่าโหระพาที่สร้างสภาวะการปนเปื้อน จะมีจำนวน *S. typhimurium* เริ่มต้น 6.19 log CFU/g และเมื่อล้างด้วยน้ำประปาเป็นเวลา 2 นาที (control) จะมีจำนวนลดลงเหลือ 5.88 log CFU/g และหลังจากที่ล้างด้วยสารละลายสารฆ่าเชื้อที่ใช้ และไม่ได้ใช้ร่วมกับ สารลดแรงตึงผิว พบว่า การล้างโหระพาด้วยสารละลายคลอรีน 200 ppm ที่ใช้ร่วมกับ Tween 80 เข้มข้น 0.1% จะมีประสิทธิภาพในการลดจำนวน *S. typhimurium* ได้มากกว่าสารละลายชนิดอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

Table 3 Effects of sanitizers plus surfactant to eliminate *Salmonella typhimurium* in sweet basil

Solution	Numbers of *S. typhimurium* (log CFU/g)
Control	5.88 ± 0.04[a]
200 ppm FAC	3.27 ± 0.13[f]
200 ppm FAC + 0.1% Tween 80	2.85 ± 0.16[g]
60 ppm PA	4.45 ± 0.16[b]
60 ppm PA + 0.1% Tween 80	4.15 ± 0.01[c]
2.5% H_2O_2	3.90 ± 0.05[d]
2.5% H_2O_2 + 0.1% Tween 80	3.58 ± 0.04[e]

FAC = Free Available Chlorine; PA = Peracetic Acid

สรุปผลการทดลอง

การศึกษาประสิทธิภาพของสารฆ่าเชื้อและสารลดแรงตึงผิวในการกำจัดเชื้อจุลินทรีย์ดั้งเดิม และ *Salmonella typhimurium* ที่ปนเปื้อนในโหระพา สรุปได้ดังนี้

เชื้อจุลินทรีย์ที่พบอยู่ตามธรรมชาติในโหระพา คือ Coliform, *Salmonella* spp., *Staphylococcus aureus* และ *Listeria monocytogenes* แต่ไม่พบ *Escherichia coli* O157:H7

สารละลายสารฆ่าเชื้อที่สามารถลดเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดได้มากที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับสารละลายชนิดอื่นในการทดลองนี้ คือ สารละลายคลอรีน 200 ppm ที่ใช้ร่วมกับ Tween 80 เข้มข้น 0.1% แต่ลดจำนวนลงได้ไม่แตกต่างทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับสารละลายกรดเปอร์อะซิติก 60 ppm ที่ใช้ร่วมกับ Tween 80 เข้มข้น 0.1% ซึ่งทั้งสองชนิดสามารถลดจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดได้ไม่แตกต่างกันทางสถิติ (P>0.05)

โหระพาที่มีการปนเปื้อนด้วย *S. typhimurium* 6.19 log CFU/g พบว่า สารละลายสารฆ่าเชื้อที่สามารถลดเชื้อจุลินทรีย์ชนิดนี้ลงได้มากที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับสารละลายชนิดอื่นในการทดลองนี้คือ สารละลายคลอรีน 200 ppm ที่ใช้ร่วมกับ Tween 80 เข้มข้น 0.1%

เมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการกำจัดเชื้อจุลินทรีย์ดั้งเดิม และ *S. typhimurium* ที่ปนเปื้อนในโหระพา พบว่าควรเลือกใช้ สารละลายคลอรีน 200 ppm ที่ใช้ร่วมกับ Tween 80 เข้มข้น 0.1% ที่อุณหภูมิห้อง (30±2°C) เป็นเวลา 2 นาที เพราะสามารถลดจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ โดยเฉพาะ *S. typhimurium* ได้มากที่สุด ทั้งนี้เพื่อเพิ่มความปลอดภัยให้แก่ผู้บริโภค

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณ ศูนย์นวัตกรรมเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว : หน่วยงานร่วมมหาวิทยาลัยขอนแก่น ที่ให้การสนับสนุนการวิจัยครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

สำนักงานที่ปรึกษาการเกษตรต่างประเทศประจำสหภาพยุโรป. 2551. สรุปรายงานการแจ้งเตือนสินค้าเกษตรและอาหารเดือน ก.ค. – พ.ย. 2551. ค้นคว้าได้จาก : www.thaieurope.net.

Nascimento, M.S., N. Silva, L.M. Catanozi and K.C. Silva. 2003. Effect of different disinfection treatments on the natural microbiota of lettuce. J Food Protect. 66: 1697-1700.

Ruiz-Cruz, S., E. Acedo-Félix, M. Díaz-Cinco, M.A. Islas-Osuna and G.A. González-Aguilar. 2007. Efficacy of sanitizers in reducing *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella spp.* and *Listeria monocytogenes* populations on fresh-cut carrots. Food Control. 18: 1383-1390.

Ukuku, D.O. 2006. Effect of sanitizing treatments on removal of bacteria from cantaloupe surface, and re-contamination with *Salmonella*. Food Microbiol. 23: 289-293.